(19) 世界知的所有権機関 国際事務局



I ITATI TUKUTU II TITUD IIDI TOKKI TOKKI TUKU II KUK TATA KUKA AIDIB TOTA IKIA IIII SIITUK ITALI UUD ITATI

(43) 国際公開日 2005 年2 月17 日 (17.02.2005)

PCT

(10) 国際公開番号 WO 2005/014633 A1

(51) 国際特許分類7:

C07K 14/435,

1/02, C12N 15/12, G01N 21/76, 33/58

(21) 国際出願番号:

PCT/JP2004/011870

(22) 国際出願日:

2004年8月12日(12.08.2004)

(25) 国際出願の言語:

日本語

(26) 国際公開の言語:

日本語

(30) 優先権データ: 特願2003-207397 特願2004-059611

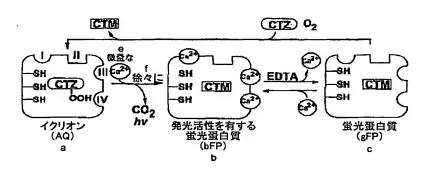
(71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): チッソ株式会社 (CHISSO CORPORATION) [JP/JP]; 〒5300005 大阪府大阪市北区中之島 3 - 6 - 3 2 Osaka (JP).

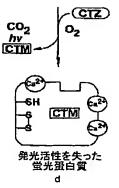
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 井上敏(INOUYE, Satoshi) [JP/JP]; 〒2368605 神奈川県横浜市金沢区大 川5-1 チッソ株式会社横浜研究所内 Kanagawa (JP).
- (74) 代理人: 一色国際特許業務法人 (ISSHIKI & CO.); 〒 1050004 東京都港区新橋2丁目12番7号 労金新橋 ビル Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE,

[続葉有]

(54) Title: FLUORESCENT PROTEIN

(54) 発明の名称: 蛍光蛋白質





- a...AEQUORIN (AQ)
- b...FLUORESCENT PROTEIN HAVING LUMINESCENT ACTIVITY (bFP)
- c...FLUORESCENT PROTEIN (gFP)
- d...FLUORESCENT PROTEIN HAVING LOST LUMINESCENT ACTIVITY
- e...MINUTE AMT. OF
- f...SLOWLY

(57) Abstract: A fluorescent protein (bFP) having chemiluminescent activity being a composite composed of an apoprotein being a calcium binding type luminescent protein, coelenteramide or an analogous compound thereof and calcium ion or a divalent or trivalent ion substitutable for calcium ion, wherein the ratio in number of molecules of apoprotein and coelenteramide is 1:1 while the ratio in number of molecules of apoprotein and divalent or trivalent ion is 1: 1 to 4. This fluorescent protein catalyzes the luminescence of coelenterazine and has fluorescence emitting capability, so that it is utilized as a marker. A novel fluorescent protein (gFP) is obtained by removing calcium ion, etc. from the fluorescent protein (bFP) having luminescent activity. When the fluorescent protein (gFP) is mixed with coelenterazine, there is provided a calcium binding type luminescent protein, which realizes instantaneous light emission by the action of calcium to thereby enable use as a marker.

- SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 一 国際調査報告書
- 請求の範囲の補正の期限前の公開であり、補正書受 領の際には再公開される。

2文字コード及び他の略語については、定期発行される 各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語 のガイダンスノート」を参照。

⁽⁵⁷⁾ 要約: 化学発光活性を有する蛍光蛋白質(bFP)は、カルシウム結合型発光蛋白質のアポ蛋白質、セレンテラミドまたはその類縁化合物、およびカルシウムイオンまたはカルシウムイオンと置換可能な2価もしくは3価のイオンより構成された複合体であり、複合体中のアポ蛋白質とセレンテラミドの分子数の比が1:1であり、アポ蛋白質と2価もしくは3価のイオンの分子数の比が1:1~4である。これは、セレンテラジンの発光を触媒し、かつ蛍光発光能を有するので、マーカーとして利用される。この発光活性を有する蛍光蛋白質(bFP)から、カルシウムイオン等を除去すると新規の蛍光蛋白質(gFP)となる。これをセレンテラジンと混合するとカルシウム結合型発光蛋白質となり、カルシウムにより瞬間的に発光するので、マーカーとして利用できる。